

## Développement de gélules à base d'extrait aqueux des feuilles de *Holarrhena floribunda* pour le traitement du diabète et de ses comorbidités

### Development of capsules based on aqueous extract of *Holarrhena floribunda* leaves for the treatment of diabetes and its comorbidities

ODOH Alida Edwige\*<sup>φ</sup>, TUO-KOUASSI Awa Nakognon<sup>φ</sup>, AKA-ANY-GRAH Sandrine, FOFIE N'Guessan Bra Yvette  
Laboratoire des Sciences du Médicament, Sciences Analytiques et Santé Publique, Unité de formation et de recherche des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Felix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

(\*) Auteur correspondant: [edwigeodoh@yahoo.fr](mailto:edwigeodoh@yahoo.fr)

<sup>φ</sup>Ces auteurs ont la même contribution

Reçu le 18 janvier 2025, accepté le 23 mai 2025 et publié le 26 juin 2025  
Cet article est distribué suivant les termes et les conditions de la licence CC-BY  
(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.fr>)

#### Résumé

*Holarrhena floribunda* est une plante originaire de l'Afrique de l'Ouest dont les feuilles sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter le diabète et la stérilité féminine. L'objectif de cette étude est de développer des gélules à base d'extrait sec aqueux de feuilles de *Holarrhena floribunda* pour le traitement du diabète et de ses comorbidités. L'extrait sec aqueux des feuilles de *Holarrhena floribunda* (EAHf) présente une couleur marron et une saveur amère aigre. La poudre, qualifiée de grossière selon la Pharmacopée Européenne, montre un mauvais écoulement, nécessitant une granulation humide pour améliorer ses propriétés rhéologiques et uniformiser les gélules. Les autres caractéristiques de la poudre de EAHf à savoir le rendement, la teneur en cendres et le pH ont des valeurs respectives de 17,7%, 12,34% et 5,26. La faible teneur en eau de 4,1 %, garantit une bonne conservation de EAHf. Son activité antioxydante est liée à sa teneur en phénols et flavonoïdes, confirmée par le test DPPH. Son efficacité antidiabétique a été établie chez des rats, avec une dose optimale de 500 mg/kg réduisant significativement la glycémie. L'évaluation de la toxicité aiguë a montré une DL50 supérieure à 5000 mg/kg, sans effets néfastes sur les souris.

Pour masquer le goût amer et améliorer l'administration, l'EAHf a été encapsulé. Les gélules, conformes aux normes pharmaceutiques, offrent une uniformité de masse et un temps de désagrégation rapide inférieure à 30 minutes. Des études supplémentaires sont nécessaires pour valider son utilisation dans le traitement du diabète.

**Mots clés:** Formulation, caractérisation, capsule, plante, *Holarrhena floribunda*

#### Abstract

*Holarrhena floribunda* is a plant native to West Africa whose leaves are used in traditional medicine to treat diabetes and female sterility. The aim of this study is to develop capsules based on aqueous dry extract of *Holarrhena floribunda* leaves for the treatment of diabetes and its comorbidities. *Holarrhena floribunda* aqueous leaf extract (EAHf) is brown in color and has a bitter-sour taste. The powder, classified as coarse according to the European Pharmacopoeia, shows poor flow, requiring wet granulation to improve its rheological properties and make the capsules uniform. The other characteristics of EAHf powder namely yield, ash content and pH have values of 17.7%, 12.34% and 5.26 respectively. The low water content of 4.1% ensures good conservation of EAHf. Its antioxidant activity is linked to its phenol and flavonoid content, confirmed by the DPPH test. Its anti-diabetic efficacy has been demonstrated in rats, with an optimal dose of 500 mg/kg significantly reducing glycemia. Acute toxicity testing revealed an LD50 greater than 5000 mg/kg, with no adverse effects observed in mice.

To mask the bitter taste and improve administration and storage, EAHf was encapsulated. The capsules, which comply with pharmaceutical standards, offer mass uniformity and a rapid disintegration time of less than 30 minutes. Further studies are needed to validate its use in the treatment of diabetes.

**Key words:** Formulation, characterization, capsule, plant, *Holarrhena floribunda*

## 1. Introduction

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne peut plus produire d'insuline ou que l'organisme ne peut pas utiliser efficacement l'insuline. L'insuline est une hormone qui régule la glycémie [1]. Ce qui entraîne une hyperglycémie. L'hyperglycémie prolongée peut entraîner des complications graves, affectant le système cardiovasculaire (maladies cardiaques), rénal (exemple néphropathie diabétique) et nerveux (les neuropathies et les troubles visuels, car la rétine fait partie du système nerveux). En plus des complications, le diabète est souvent accompagné de certaines maladies ou comorbidités à savoir la dyslipidémie et l'hypertension artérielle (HTA) qui augmentent le risque de complications cardiovasculaires.

Le diabète représente un enjeu de santé publique majeur car en plus de sa morbidité, sa prévalence ne cesse de croître. En effet, en 2019, on estimait à 463 millions le nombre de personnes vivant avec le diabète dans le monde, un chiffre qui devrait atteindre 578 millions en 2030. En Côte d'Ivoire, la prévalence du diabète est de 5 % [1].

Les recommandations de l'OMS concernant la gestion du diabète, mises en œuvre à travers la "Directive nationale de prise en charge du diabète sucré" en Côte d'Ivoire, mettent l'accent sur une approche intégrée incluant des médicaments de synthèse, l'éducation des patients, un régime alimentaire approprié et l'activité physique. Toutefois, l'accès limité aux médicaments essentiels, comme l'insuline, dans les pays à revenu faible ou intermédiaire, complique cette gestion. La médecine traditionnelle représente une alternative intéressante, surtout en Afrique, où une grande majorité de la population recourt à ces traitements pour les soins de santé primaires [2].

*Holarrhena floribunda* est un arbuste qui est présente du Sénégal au Cameroun, jusqu'à la république démocratique du Congo. C'est une plante dont l'écorce, les racines et les feuilles sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle africaine. L'écorce est utilisée contre la dysenterie amibienne, les racines sont associées aux feuilles pour faciliter l'accouchement. Le décocté et l'infusé des feuilles ont une saveur amère et sont utilisés pour traiter l'aménorrhée et le diabète [3].

Des travaux scientifiques ont montré une bonne activité hypoglycémiant des fractions d'acétate d'éthyle végétal et de dichlorométhane de feuilles de *Holarrhena floribunda*, ainsi qu'une absence de toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait méthanolique des feuilles [4-6].

L'objectif de ce travail est d'une part de réaliser des études d'efficacité antidiabétique et de toxicité sur l'extrait aqueux qui est celui utilisé en ethnobotanique et d'autre part de masquer le goût amer du décocté afin d'améliorer l'administration de cet extrait à travers le développement de gélule à base d'extrait sec aqueux.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Holarrhena floribunda* récoltées en mars 2019 à Agboville en Côte d'Ivoire. L'échantillon a été authentifié par une identification morphologique au Centre national floristique (CNF) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (UFHB). L'herbier y est conservé sous l'appellation 281B E. Adjanohoun. Les feuilles ont été prélevées et séchées à la température ambiante (25°C), à un taux d'humidité de 70%, à l'abri du soleil, pendant un mois selon le protocole du Laboratoire de Pharmacognosie, Botanique, Biologie végétale et Cryptogamie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'UFHB [7]. Elles ont été ensuite broyées (Broyeur Retsch Grindomix) à 2000 tr/min pour obtenir une poudre fine.

### 2.2. Préparation des extraits aqueux

100g de poudre fine de feuilles séchées de *Holarrhena floribunda* ont servi à préparer les extraits aqueux par décoction. Cette poudre fine a été ajoutée à 100 mL d'eau distillée et le mélange a été porté à ébullition à 100°C, dans un chauffe-ballon thermostatée sous agitation magnétique pendant 30 min. Après refroidissement, le mélange obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre whatman 3 mm (Gelman Sciences SA, France). Le filtrat recueilli, a été évaporé à l'étuve à 50 °C jusqu'à dessiccation complète. L'extrait sec aqueux de *Holarrhena floribunda* (EAHf) a été conservé à 4°C. Le rendement d'extraction (RE) a été déterminé.

### 2.3. Caractérisation de l'EAHf

#### 2.3.1. Examen organoleptique

La détermination des caractères organoleptiques a consisté à observer l'extrait sec EAHf, le toucher, le sentir et le goûter.

#### 2.3.2. Contrôle qualité

Le contrôle qualité a été réalisé sur l'extrait de *Holarrhena floribunda* selon les méthodes analytiques décrites ci-dessous.

- Détermination de la teneur en eau (Norme ISO 712 : 2009)

Dans une capsule cinq grammes (5 g) de poudre d'extrait ont été introduits. La capsule a ensuite été mise dans une étuve pendant 1 heure à une température de 130°C. Après séchage, la capsule a été retirée de l'étuve et puis mise à refroidir au dessiccateur pendant 30 mn avant d'être pesée. Ce test a été tripliqué.

- Détermination de la teneur en cendres (Norme ISO 2171 : 2007)

La teneur en cendres de l'EAHf est déterminée après incinération de cinq grammes (5g) d'une prise d'essai d'extrait contenue dans une capsule, au moyen d'un four à une température de 550°C pendant 24 heures suivi de refroidissement au dessiccateur pendant 15 min et enfin pesée du résidu obtenu.

La teneur en cendres des extraits exprimée en (%) est calculée par la relation ci-dessous :

$$\text{Teneur en cendres (\%)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Avec  $m_0$  : masse en g des capsules vides ;

$m_1$  : masse en g des capsules vides et des prises d'essai ;

$m_2$  : masse en g des capsules vides et des prises d'essai après incinération

- Détermination du pH

Dix grammes (10 g) de poudre de EAHf ont été mise à macération dans 75 ml d'eau distillée pendant 30 minutes. Le filtrat a été analysé au moyen du pH-mètre. L'essai a été répété trois fois. Les valeurs de pH de chaque extrait sont obtenues après lecture au pH-mètre.

### 2.3.3. Contrôles galéniques

- Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique de EAHf a été réalisée à l'aide d'une colonne de tamis (600  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , fond) sous agitation pendant 5 mn. Les refus des différents tamis ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France) et des histogrammes des fréquences simples et cumulées de la taille des particules ont été réalisés afin de déterminer graphiquement la taille médiane ( $d_{50}$ ) correspondant à la taille de 50% des particules. L'essai a été répété 3 fois [8].

- Détermination de l'aptitude au tassement

Un échantillon de 100 g d'extrait aqueux des feuilles de *Holarrhena floribunda* a été introduit dans une éprouvette graduée et tassé légèrement puis le volume ( $V_0$ ) a été noté. Ensuite, 10 ; 500 et 1250 tassements ont été réalisés correspondant respectivement à  $V_{10}$ ,  $V_{500}$  et  $V_{1250}$ . Si la différence entre  $V_{500}$  et  $V_{1250}$  est inférieure à 2 ml alors  $V_{1250}$  représente le volume tassé final. Dans le cas contraire, des tassements supplémentaires doivent être effectués jusqu'à ce que la différence entre  $V_{500}$  et le volume final ( $V_n$ ) soit inférieure à 2 ml. Les valeurs obtenues ont permis de calculer les indices de Carr (IC) et de Hausner (IH) selon les formules respectives (a) et (b). L'essai a été répété 3 fois [8].

$$\text{IC (\%)} = \frac{V_0 - V_f}{V_0} \quad (\text{a})$$

$$\text{IH} = \frac{V_f}{V_0} \quad (\text{b})$$

### 2.3.4. Évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

La mesure de l'activité anti radicalaire *in vitro* de l'EAHf a été effectuée par le test au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon la méthode de Parejo et al., [9] avec quelques modifications. Un volume de 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 100  $\mu\text{M}$  ont été mélangés avec 1,5 ml de solution méthanolique d'extrait à différentes concentrations allant de 0 à 400  $\mu\text{g/ml}$ . Une gamme de concentrations de 0 à 100  $\mu\text{g/ml}$  pour la vitamine C a été utilisée comme référence. Un blanc composé de 2 ml de la solution méthanolique de DPPH et de 1,5 ml de méthanol est préparé. Les solutions méthanoliques d'extrait, du blanc et de vitamine C ont été ensuite gardées à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant 30 minutes. La décroissance de l'absorbance a été mesurée à 517 nm au spectrophotomètre UV-VIS (Specord 210 plus, Jena, Allemagne) et le % pourcentage d'inhibition (PI) a été calculé suivant la formule :

$$\text{PI} = \left[ \frac{A_0 \pm A_1}{A_0} \right] \times 100 \quad (\text{c})$$

PI (%) : Pourcentage d'inhibition en pourcentage (%)

$A_0$  : Absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait (blanc)

$A_1$  : Absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait (essai)

La CI50 est la concentration d'extrait ou de la vitamine C responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH. Elle est déterminée par projection sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait et de la vitamine C.

### 2.3.5. Étude de l'activité antidiabétique de l'EAHf chez des rats

Les EAHf ont été administrés aux rats Wistar par gavage gastrique après 18 heures de jeûne. Quatre lots de cinq souris ont été constitués. Le premier lot témoin a reçu de l'eau distillé tandis que les lots 2, 3 et 4 étaient constitués d'animaux ayant reçu des doses croissantes d'extrait respectivement 300, 400 et 500 mg/kg PC. Ces doses correspondent à celles qui ont été utilisées pour démontrer l'activité hypoglycémiant de l'extrait d'acétate d'éthyle [4]. La glycémie des rats a été mesurée par un glucomètre juste avant le gavage puis chaque 30 minutes durant 3 heures. La dose d'extrait entraînant une diminution significative stable de la glycémie basale constituerait la dose active.

La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans le lecteur de la glycémie et la valeur de la glycémie s'affiche sur l'écran du glucomètre. Cette valeur est donnée en g/l [10].

### 2.3.6. Étude de la toxicité aiguë par voie orale

La toxicité aiguë par voie orale des EAHf a été évaluée selon la méthode OCDE 423 [11]. Quatre lots (A, B, C, D) de six souris femelles de type Swiss ont été formés. Un volume de 2 ml d'une solution aqueuse a été administré par gavage intra gastrique, par voie orale, à chaque souris.

Le lot A a reçu 2 ml d'eau distillée, le lot B a reçu 1000 mg d'extrait/Kg de poids corporel, le lot C a reçu 2000 mg d'extrait/Kg de poids corporel, le lot D a reçu 5000 mg d'extrait/Kg de poids corporel. Le taux de mortalité, la présence de signes de morbidité (présence de somnolence, absence de toilettage) ainsi que la variation de poids ont été notés sur 14 jours [11].

## 2.4. Fabrication des gélules

Le mauvais écoulement de la poudre d'extrait sec de *H. floribunda* a conduit à une granulation par voie humide avec le PEG 6000 à 10% comme liant, afin d'améliorer les propriétés rhéologiques de la poudre d'extrait pour faciliter le remplissage des

gélules vides. Les gélules obtenues ont fait l'objet de caractérisation. Le remplissage des gélules de taille n° 2, a été effectué par la méthode d'arasage à l'aide d'un gélulier manuel. La table de remplissage des gélules a servi à déterminer le volume total de poudre à utiliser [12].

## 2.5. Contrôles galéniques et biogaléniques

### 2.5.1. Examen macroscopique

Les caractéristiques macroscopiques des gélules obtenues ont été décrites. Il s'agit notamment de la couleur, la propreté et le scellage des capsules [8].

### 2.5.2. Test d'uniformité de masse

20 gélules pleines, prélevées au hasard, ont été pesées individuellement à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France). 20 gélules vides ont été pesées ensemble et ont permis de déterminer la masse moyenne d'une gélule vide. La différence entre la masse d'une gélule pleine et la masse d'une gélule vide, correspond à la masse de la poudre d'extrait contenue dans chaque gélule. La masse moyenne de poudre d'extrait (X) et l'intervalle de confiance IC de chaque échantillon ont été déterminés. Une ou deux valeurs au maximum peuvent s'écarter de IC. Aucune valeur ne doit s'écarter de IC' [8].

$$IC = X \pm PX \text{ (d)}$$

$$IC' = X \pm 2PX \text{ (e)}$$

### 2.5.3. Essai de désagrégation

Le test de désagrégation a porté sur 6 gélules prélevées au hasard et introduites individuellement dans les tubes du delitest (Pharmatest PTZ, France), à 37°C pendant 30 min. Le milieu de désagrégation utilisé est l'eau osmosée à 37°C. Le temps de désagrégation complète (TD) de chaque gélule a été noté. L'essai a été répété 3 fois [8].

## 2.6. Analyses statistiques

Le test de Chi deux a été utilisé pour tester l'existence de relations entre différentes variables issues des données. Le niveau de significativité choisi pour ces analyses est de 5%. Le logiciel STATISTICA 7.1 a été utilisé pour la réalisation de tous les tests statistiques de Khi-deux. Le traitement statistique des données pharmacologiques et les représentations graphiques ont été effectués respectivement à l'aide des logiciels GraphPadInStat et GraphPadPrism 8 (Microsoft, San Diego Californie, USA). Les différentes valeurs obtenues ont été exprimées sous la forme de moyenne suivie de l'erreur standard sur la moyenne (M±ESM). L'analyse des variances a été effectuée par le test Anova. Le test de Tukey-Kramer a été utilisée pour effectuer des comparaisons multiples afin d'apprécier la signification des différences observées. La valeur statistique  $p < 0,05$  a été considéré significative.

## 3. Résultats

### 3.1. Etude de qualité

#### 3.1.1. Examen organoleptique de l'EAHf

La poudre de l'EAHf était de couleur marron et de saveur amère aigre (**Figure 1**).



**Figure 1 : Extrait sec aqueux des feuilles de *Holarrhena floribunda* EAHf**

#### 3.1.2. Contrôle qualité de l'EAHf

Les résultats du contrôle qualité de la poudre de l'EAHf ont été consignés dans le Tableau I.

Le rendement d'extraction (RE) était de  $17,70 \pm 0,56\%$ . Le taux d'humidité résiduelle (HR) était de  $4,10 \pm 0,00\%$ . Son pH en milieu aqueux à 10%, était de  $5,26 \pm 0,01$ . La teneur en cendres de l'EAHf était de  $12,34 \pm 0,03\%$ .

**Tableau I : Paramètres pharmacotechniques de l'EAHf**

| Paramètres            | EAHf             |
|-----------------------|------------------|
| RE (%)                | $17,70 \pm 0,56$ |
| d50 (µm)              | 300              |
| IC (%)                | $31,20 \pm 0,70$ |
| IH (%)                | $1,78 \pm 0,20$  |
| HR (%)                | $4,10 \pm 0,00$  |
| Teneur en cendres (%) | $12,34 \pm 0,03$ |
| pH                    | $5,26 \pm 0,01$  |

### 3.1.3. Contrôles galéniques de l'EAHf

L'analyse granulométrique de l'EAHf par la méthode des tamis a donné un pic qui se situe à 600  $\mu\text{m}$  (59,3 %) avec un diamètre médian ( $d_{50}$ ) de 600  $\mu\text{m}$ . Le test de comprimabilité réalisé par tassement sur l'EAHf, a donné des indices de Carr (IC) et de Hausner (IH) qui étaient respectivement de  $31,20 \pm 0,70$  et  $1,78 \pm 0,20$  (Tableau 1).

### 3.1.4. Contrôles galéniques et biogaléniques des gélules

Les gélules obtenues sont propres, de couleur blanc-ivoire, bien scellées et non déformées (Figure 2).



Figure 2 : Gélules à base de l'extrait aqueux des feuilles de *Holarrhena floribunda*

Les résultats des essais de caractérisations pharmacotechniques des gélules d'EAHf ont été consignés dans le Tableau II. Ils ont pour rôle de vérifier la conformité des gélules formulées. La masse moyenne (MM) des EAHf contenue dans les gélules était de  $488,40 \pm 13,60$  mg, avec un intervalle de confiance (IC) variant de 451,80 à 525,03 mg. Le temps de désagrégation (TD) des gélules est de  $4,50 \pm 0,50$  mn en moyenne (Tableau II).

Tableau II : Paramètres pharmacotechniques des gélules à base de l'EAHf

| Paramètres | Gélules de l'EAHf  |
|------------|--------------------|
| MM (mg)    | $488,40 \pm 13,60$ |
| IC (mg)    | 451,80 - 525,03    |
| TD (mn)    | $4,50 \pm 0,50$    |

## 3.2. Etude d'efficacité

### 3.2.1. Étude de l'activité anti oxydante

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'EAHf a été exprimée en CI50. La CI50 de EAHf ( $41,73 \pm 0,29$   $\mu\text{g/ml}$ ) était supérieure à celle de la substance de référence CI50 de Vitamine C ( $8,06 \pm 0,09$   $\mu\text{g/ml}$ ).

### 3.2.2. Etude de l'activité dose-réponse antidiabétique de l'EAHf chez des rats normo glycémiques

Les valeurs basales de la glycémie des rats à jeun, mesurées avant les différents traitements, ne présentaient aucune différence significative entre les lots. Elles étaient de l'ordre de  $0,97 \pm 0,03$  g/L et correspondaient aux valeurs standards (Figure 3).

Les rats ayant reçu la dose 300 mg/kg P.C. de EAHf ne présentaient pas de baisse significative ( $P > 0,05$ ) de la glycémie. Les doses de 400 mg/kg P.C. de EAHf entraînaient une baisse significative ( $P < 0,05$ ) de la glycémie du rat sain au bout de 180 minutes ; de 0,97 g/L à 0,80 g/L, soit une baisse de 17,52 %. Les doses de 500 mg/kg P.C. de EAHf provoquaient en 180 minutes, une baisse plus importante de la glycémie du rat ( $P < 0,01$ ), de 0,97 g/L à 0,72 g/L, soit 27,17 % de réduction (Figure 3).

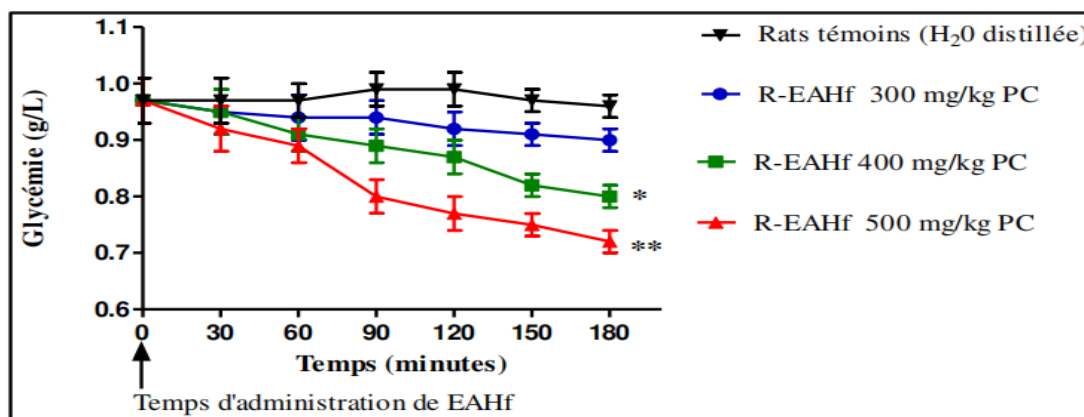
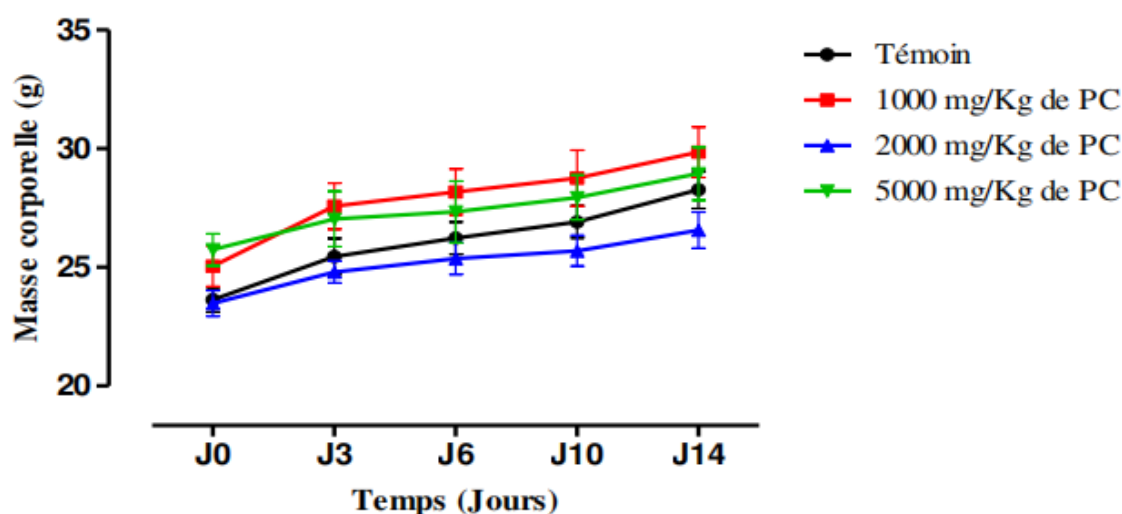


Figure 3. Effets dose-réponse de EAHf sur la glycémie de rats normo glycémiques

### 3.3. Étude de la toxicité aiguë de l'EAHf par voie orale

L'administration par voie orale de 1000, 2000 et 5000 mg/Kg de PC des EAHf aux souris n'a entraîné aucun cas de mortalité. Aucun signe de morbidité n'a été notifié. De plus, durant les 14 jours qui ont suivi l'administration des doses, les poids des animaux n'a pas varié de manière significative. (Figure 4).



**Figure 4.** Variation de la masse corporelle des souris après administration unique par voie orale des doses 1000, 2000 et 5000 mg/kg de PC de EAHf

#### 4. Discussion

L'examen organoleptique de l'EAHf a révélé la présence d'une couleur marron et d'une saveur amère aigre. L'analyse granulométrique de l'EAHf a été réalisée par la méthode des tamis et a montré des pics très proches de 600  $\mu\text{m}$  et des diamètres médians ( $d_{50}$ ) également très proches de 600  $\mu\text{m}$ . Selon la Pharmacopée Européenne, cette poudre d'extrait pourrait être qualifiée de poudre grossière [8]. Les propriétés rhéologiques de EAHf ont été évaluées et ont permis de déterminer les indices de Carr et de Hausner qui sont respectivement de  $31,20 \pm 0,70$  et  $1,78 \pm 0,20$ . Ces résultats ont mis en évidence un mauvais écoulement de la poudre de l'EAHf [8].

Il a fallu donc procéder à une granulation par voie humide de la poudre pour améliorer ses propriétés rhéologiques afin de faciliter le remplissage des gélules et obtenir une bonne uniformité de la masse des gélules et partant, de la teneur en substances actives [13,14].

Le rendement, le pH et la teneur en cendres de l'EAHf étaient respectivement de  $17,70 \pm 0,56\%$ ;  $5,26 \pm 0,01$  et  $12,34 \pm 0,03\%$ . Ces constantes physiques sont caractéristiques de l'extrait et leur modification sera le signal d'une dégradation ou adultération de l'extrait lors d'une future étude de stabilité. En recherchant l'activité antimicrobienne, Millogo a trouvé un rendement de 23,54% proche de EAHf pour une solution du décocté des feuilles de *Holarrhena floribunda* diluée au 1/12ème et une décoction de 10 mn [15].

Sa teneur en eau était de  $4,10 \pm 0,00\%$ . Cette valeur était inférieure à 5% comme l'exige la pharmacopée [16]. La faible teneur en eau de l'EAHf laisse présager d'une bonne conservation des gélules à la température ambiante. Par ailleurs, ce faible taux d'humidité pourrait éviter les phénomènes d'agglomération de l'EAHf au sein des gélules et réduirait également d'éventuelles réactions enzymatiques ainsi que le développement des microorganismes [17].

Le goût amer de l'EAHf rendait difficile son administration. La forme gélule a été choisie pour masquer le goût amer de l'EAHf puis améliorer ses conditions d'administration et de conservation. La formulation des gélules à base de EAHf a été réalisée avec du PEG 6000, utilisé comme liant. La masse moyenne de la poudre contenue dans les gélules est d'environ 488,4 mg avec une bonne répartition des masses qui sont toutes contenues dans l'intervalle de confiance calculé avec un écart limite de 7,5 % de la moyenne. Cette uniformité de la masse des gélules pourrait rassurer sur la bonne répartition de la teneur en substances actives des gélules [18]. Le temps de désagrégation des gélules ( $4,50 \pm 0,50$  mn) reste également conforme aux spécifications de la Pharmacopée Européenne 9e éd car étant inférieur à 30 mn [8].

Des études complémentaires d'efficacité et de sécurité seront réalisées pour confirmer l'utilisation de ces gélules par voie orale dans la prise du diabète.

Les plantes utilisées dans le traitement des pathologies chroniques ont généralement une bonne activité antioxydante combattant le stress oxydatif à l'origine de ces pathologies [9].

Les groupements actifs présents en général peuvent céder facilement un électron (Test FRAP) ou un proton (Test DPPH) pour neutraliser les radicaux libres. L'activité antioxydante de EAHf a été évaluée par la méthode d'évaluation du pouvoir antioxydant (DPPH). Un extrait est plus antioxydant si sa CI50 est plus basse [19]. Ainsi, les résultats obtenus avec le test DPPH montraient que l'EAHf a présenté une activité anti-radicalaire. Il existe une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire due à leur pouvoir réducteur [20]. L'activité antioxydante de l'EAHf serait donc liée à sa teneur en phénols totaux et à la présence des flavonoïdes totaux mis en évidence lors du tri phytochimique réalisé dans des travaux antérieurs [7].

Concernant l'efficacité de l'EAHf sur le diabète, une étude sur la glycémie basale des rats normo glycémiques à jeun a permis de rechercher la dose thérapeutique. A cet effet, des doses croissantes ont été administrées à des animaux. La première dose administrée était de 400 mg/kg de PC et a entraîné une baisse significative de la glycémie ( $P \leq 0,05$ ).

La dose de 500 mg/kg par la suite a provoqué une baisse plus significative que celle de 400 mg/kg de PC. L'augmentation de la dose a entraîné donc un effet plus significatif.

Ceci permet de montrer que l'extrait EAHf a un effet sur la glycémie du sujet sain. Ces mêmes doses pourraient être utilisées pour le test de tolérance au glucose et le test de sur le rat rendu diabétique par l'alloxane et la streptokinase. Des études similaires ont été réalisées en Côte d'Ivoire, avec des extraits de *Holarrhena floribunda* administrés à des rats [21,22]. L'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles a montré une action hypoglycémiant sur des rats sains également à partir de la dose de 500 mg. Dans cette étude, cette même dose a permis de rétablir l'hyperglycémie chronique causée par ingestion de la streptokinase.

Après la détermination de la qualité et l'efficacité de l'EAHf, la sécurité de cet extrait a été évaluée chez des souris. Aucun cas de mortalité animale n'a été notifié après administration orale de doses uniques de 1000, 2000 et 5000 mg de l'EAHf. La DL50 de l'EAHf était supérieure à 5000 mg/Kg de PC [11]. Cet extrait n'avait donc pas une toxicité aiguë comme le confirme les études ethnobotaniques antérieures [4,6,21]. De plus, le poids constant des animaux au cours des 14 jours de l'étude témoignait que la prise des doses n'a pas affecté l'état général des souris.

D'autres études de toxicité aiguë réalisées en Côte d'Ivoire et au Togo sur l'extrait d'acétate d'éthyle et d'éthanol, des feuilles de *Holarrhena floribunda* ont aussi révélé une DL50 supérieure à 3000 mg/kg [21,23,24,25]. Cependant la plupart des études réalisées hors de la Côte d'Ivoire, ont permis d'identifier une Dose Létale 50. Des DL50 de 707,107 mg/kg pour l'extrait aqueux des graines au Nigéria [26], de 495 mg/kg pour le macéré des feuilles et de 1000 mg/kg pour le décocté des feuilles au Burkina ont été notées [15,27]. Ces différences peuvent être dues à des variations soit d'espèces, d'une région à l'autre, soit de la composition de l'extrait.

Des études complémentaires de caractérisation physicochimique et d'évaluation in vivo seront à réaliser pour confirmer l'utilisation de ces gélules par voie orale dans la prise du diabète.

## 5. Conclusion

Les travaux menés sur l'extrait aqueux des feuilles d'*Holarrhena floribunda* (EAHf) ont permis de démontrer ses propriétés physicochimiques, biologiques et pharmacologiques intéressantes. L'amélioration des caractéristiques rhéologiques par granulation, la formulation en gélules pour masquer le goût amer et garantir une meilleure administration, ainsi que les résultats prometteurs en termes d'activité antioxydante et hypoglycémiant, en font une option prometteuse pour la gestion du diabète. De plus, l'absence de toxicité aiguë à des doses élevées renforce son potentiel d'innocuité. Toutefois, des études supplémentaires, notamment de caractérisation approfondie, le dosage de marqueurs actifs et d'évaluation in vivo, restent nécessaires pour confirmer ces résultats et optimiser son utilisation thérapeutique. De plus des études de stabilité sont nécessaires pour estimer la date de péremption. Ces avancées ouvrent la voie à une valorisation accrue de cette plante médicinale dans un cadre pharmaceutique.

## Références

1. FID. L'atlas du diabète de La FID. 9ème. Bruxelles, Belgique: Fédération Internationale du Diabète ; 2019. 176p
2. PNLMM/PMNT. Directives nationales de prise en charge du Diabète sucré. 1ère.
1. Abidjan, Côte d'Ivoire: Programme National de Lutte contre les Maladies Métaboliques et de Prévention des Maladies Non-Transmissibles; 2018, 81p.
2. Arbonnier, M. Arbres, Arbustes et Lianes Des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest. Quae. Paris, France ; 2009, 574p.
3. Gngoran BN, Nguessan BB, Amoateng P, Dosso K, Yapo AP, Ehile EE. Hypoglycaemic activity of ethanolic leaf extract and fractions of
4. *Holarrhena floribunda* (Apocynaceae). J Med Biomed Sci. 2012;1(3):46–54.
5. Bogne KP, Penlap BV, Mbofung CM, Etoa FX. Acute and subacute toxicity of the methanol extract from *Holarrhena floribunda* G. Don (Apocynaceae). Eur J Exp Biol. 2012;2(4):1284–8.
6. Setia A, Jangdey MS, Sharma M et al. *Holarrhena floribunda*: A Potential Traditional Plant. Pharm & Biosci J. 2021; 9(4); 42.
7. Odoh AE, Kablan LC, Tuo-Kouassi AN, Adiko NM, Akoubet OA, Fofie Y, et al. Criblage phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante du décocté des feuilles de *Holarrhena floribunda* (Apocynaceae). Afr Bioméd. 2021;26(1):102–8.
8. European Pharmacopoeia 9th Edition | EDQM - European Directorate for the Quality of Medicines [Internet]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-9th-edition> (accessed 2024 Dec 8).
9. Parejo I, Valadomat F, Bastida J, Rossa Romero A, Ferlage N, Burillo J, et al. Comparison between the radical scavenging activities and antioxidant activity of six distilled and non-distilled Mediterranean herbs and aromatic plants. J Agric Food Chem. 2002; 50:6882–90.
10. Mansar-Benhamza L, Djerrou Z. Evaluation of anti-hyperglycemic activity and side effects of *Erythraea centaurium* (L.) Pers. in rats. Afr J Biotechnol. 2013;12(50):6980.

11. OCDE. Essai N° 423: Toxicité Orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë, lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4. Paris: Editions OCDE; 2002. 14 p.
12. Bhaskaran S, Pradeep GC, Lakshmi PK. Formulation and evaluation of Diphenhydramine hydrochloride and Ibuprofen soft gelatin capsules [Internet]. 2011. Available from: <http://www.japsonline.com/counter.php?aid=110>.
13. Schüssele A, Bauer-Brandl A. Note on the measurement of flowability according to the European Pharmacopoeia. *Int J Pharm.* 2003; 257:301–4.
14. Thalberg K, Lindholm D, Axelsson A. Comparison of different flowability tests for powders for inhalation. *Powder Technol.* 2004;146:206–13.
15. Millogo H. Contribution à l'étude chimique et microbiologique de *Holarrhena floribunda* (G. Don) Dur. et Schinz (Apocynaceae): Étude de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes et leur évaluation toxicopharmacologique. Thèse de Doctorat. Université de Ouagadougou; 1992. 117 p.
16. Organisation de l'Unité Africaine. Pharmacopée Africaine, Méthodes Générales d'Analyses. Lagos, Nigeria: OUA/Commission Scientifique Technique et de la Recherche; 1998. 254 p.
17. Iqbal S, Younas U, Chan KW, Zia-Ul-Haq M, Ismail M. Chemical composition of *Artemisia annua* L. leaves and antioxidant potential of extracts as a function of extraction solvents. *Molecules.* 2012; 17:6020–32.
18. Zaid AN, Al-Ramahi RJ, Ghoush AA, Qaddumi A, Zaaror YA. Weight and content uniformity of lorazepam half-tablets: A study of correlation of a low drug content product. *Saudi Pharm J.* 2013; 21:71–5.
19. Kpegba K, Etonam TK, Oudjaniyobi S, Komlatsè T, Pakoupati B. A significant antihypertensive effect of *Holarrhena floribunda* supported by an exploratory phytochemical study. *J Herbmed Pharmacol.* 2018;7(3):160–7.
20. Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, et al. Effect of interaction of tannins with co-existing substances VI. Effect of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chem Pharm Bull.* 1990;38(5):1224–9.
21. N'guessan BB, Boua NG, Sarkodie JA, Dosso K, Akwo Kretchy I, Amoateng P, et al. Alternative to conventional diabetic management: the antihyperglycaemic potential of an ethyl acetate fraction extract of *Holarrhena floribunda*. *Eur J Med Plants.* 2015;8(4):175–89.
22. Placide EA, Mea A, Kahou Bi GP, Irie Bi JS, Nguessan KJ, Abo JC. Effect of *Picralima nitida* on the glycemia and intestinal absorption of glucose in rat. *GSC Biol Pharm Sci.* 2018;5(3):106–14.
23. Nngoran BN, N'Guessan BB, Amoateng P, Dosso K, Yapo AP, Ehile EP. Hypoglycaemic activity of ethanolic leaf extract and fractions of *Holarrhena floribunda* (Apocynaceae). *J Med Biomed Sci.* 2012;1(3):46–54.
24. N'Guessan K, Doh KS, Bomisso EL. Effect of aqueous extract of *Picralima nitida* seeds on the glycaemia of rabbits. *Int Res J Pharm Appl Sci.* 2013;3(5):192–6.
25. Hoekou YP, Tchadjobo T, Karou SD, Yerbanga RS, Achoribo E, Da O, et al. Therapeutic potentials of ethanolic extract of leaves of *Holarrhena floribunda* (G. Don) Dur. and Schinz (Apocynaceae). *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2017;14(2):227–33.
26. Olufunsho A, Couliadiaty AGV, Oluyemi AG, Sunday A, Omoseyindemi B, Busia K. Toxicological evaluation of *Picralima nitida* in rodents. *J Ethnopharmacol.* 2019; 236:205–19.
27. Tamboura HH, Bayala B, Lompo M, Guissou IP, Sawadogo L. Ecological distribution, morphological characteristics and acute toxicity of aqueous extracts of *Holarrhena floribunda* (G. Don) Dur. & Schinz, *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne and *Cassia sieberiana* (DC) used by veterinary healers. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2004;2(1):13–24.